

Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. Hansjürgen Raettig

Persorption von T₃-Phagen unter Einfluß von
Harnstoff bei der weißen Maus

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Eva von Seefranz-Kohlbecker
aus Karlsruhe

1976

Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. Hansjürgen R a e t t i g

Persorption von T₃-Phagen unter Einfluß von
Harnstoff bei der weißen Maus

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin



vorgelegt von
Eva von Seeffranz-Kohlbecker
aus Karlsruhe

Referent: Professor Dr. H. Raettig
Korreferent: Professor Dr. G. Volkheimer

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 12.7.76



INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
A. Einleitung und Aufgabenstellung	5
1. Die Persorption von Viren	5
2. Die Verwendung von Adjuvantien zur Persorptionserhöhung	6
3. Aufgabenstellung	8
B. Material und Methoden	9
1. Versuchstiere	9
2. T ₃ Phage / Anzüchtung	9
3. Versuchsanordnungen	9
C. Ergebnisse	11
1. Vorversuche	11
a) Ureamenge	11
b) Magensaftentnahme	11
2. Hauptversuche	14
a) Gleichzeitige Gabe von Urea und Phagenlösung	
b) Ureagabe 2 h vorher	
D. Diskussion	19
E. Zusammenfassung	27
F. Literatur	28



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533901_0002

A. EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG

=====

1. Zur Persorption von Viren

Wie seit langem bekannt ist, stellt die Schleimhaut des Intestinaltrakts für kleinste Partikel kein Hindernis dar und wird in kürzester Zeit durchdrungen. HERBST (19) berichtete als erster schon 1844, daß oral verfütterte Stärkekörner unverändert im Ductus thoracicus und im Blut des Hundes erscheinen. 1906 wies die Berliner Pathologin HIRSCH beim Menschen und Hund nach oraler Gabe von Stärkekörnern diese in Blut und Urin nach (21). In jüngster Zeit hat VOLKHEIMER dieses Phänomen wieder aufgegriffen und ist zu demselben Ergebnis gekommen, und zwar auch mit einer Vielzahl von anderen Partikeln, nämlich mit PVC-Kügelchen, Lycopodien, Diatomeen, Stärkekörnern, Muskelbruchstücken, Parasiteneiern, Pollen, Hefe- und Pflanzenzellen. Er nannte diese Art von Übertritt von festen ungelösten Partikeln aus dem Darmlumen in den Organismus nach seinem Entdecker: HERBSTEFFEKT (49). Er beschreibt, daß die Partikel durch die Muscularis mucosae an den Desquamationszonen des einschichtigen Epithels und durch die normalen Zellzwischenräume hindurch in das Stroma der Darmschleimhaut geknetet werden und dann auf chylösem und hämatösem Wege abtransportiert werden. Er schließt aus der Größe der Korpuskeln (bis 70 μ) und aus der dem Darmlumen zugewandten Epithelzelloberfläche (etwa 6 - 8 μ), daß keine zelluläre Resorption stattfinden kann, sondern daß der Durchtritt parazellulär mechanisch wie oben beschrieben vor sich gehen muß. Dieser Persorptionsvorgang soll in allen Darmabschnitten möglich sein. Verstärkt tritt er jedoch an Stellen auf, an denen die Muscularis mucosae und die Desquamationszonen des Epithels eine gesteigerte Motorik aufweisen (48, 49, 50).

So ist es leicht nachvollziehbar, daß auch Viren nach oraler Gabe im Blut erscheinen. Wobei z. B. der Coliphage T_1 bei der

Ratte sofort in der Lymphe erscheint und über den Ductus thoracicus in das Blut gelangt, ein kleiner Teil aber direkt in das Blut der Vena portae übertritt (20). HOFFMANN zeigte, daß sich schon nach 15 min bei 66 % der Tiere T_3 Phagen im Blut nachweisen lassen (22) und der Phage des Bacterium megatherium tritt nach Magenspülung bei 71 % im Blut weißer Mäuse auf (23). Im Trinkwasser verabreichte Aktinophagen treten Minuten später im Blut auf (7). GERBERMANN und Mitarbeiter impften Hühnchen oral mit Hühnerpockenvirus und konnten das Virus nach 2 min im Blut nachweisen (15). WOLOCHOW u. a. versuchten nach Instillation in den Intestinaltrakt eine Relation zwischen Größe der Mikroorganismen und der Höhe der Persorptionsrate zu finden, was nicht gelang (54). RAETTIG zeigte, daß der Coliphage T_3 15 min nach oraler Gabe im Blut erscheint und schließt aus den Versuchen, daß, da sich der Phage in den Epithelzellen nicht vermehren kann und die Durchdringungsfähigkeit für intrazelluläre Vorgänge zu kurz ist, eine parazelluläre Resorption stattfinden muß (33). In seinen Versuchen mit dem mäusepathogenen Col SK Virus findet er in derselben Zeitspanne wie beim T_3 Phagen die Viren im Blut und nennt diese Form der Virämie zur Abgrenzung gegenüber der Infektionsvirämie Resorptionsvirämie (34). Es wurde dann in einer zusammenfassenden Arbeit eine allgemeine Persorptionskurve aufgestellt, nachdem mit verschiedenen Testorganismen nachgewiesen worden war, daß diese weitgehend unabhängig von Größe, Vermehrungszustand und Menge in gleichen Zeitabschnitten prozentual gleich häufig persorbiert werden (41).

2. Die Verwendung von Adjuvantien zur Resorptionserhöhung

Schon seit langem gibt es Versuche, die Persorption von Stoffen durch Hilfsstoffe - Adjuvantien - zu erhöhen. Einer der ersten war DIETRICH, der am Modellfall der Resorption von Tetanustoxin mehrere gallensaure Salze wie desoxycholsaures, glykocholsaures und taurocholsaures Natrium und auch Galle selbst überprüfte. Galle war seit Besredka ein wichtiges Adjuvans. BESREDKA (4, 5) war durch Tierversuche und Literaturzusammen-

stellung zu der Auffassung gekommen, daß sich gute Impferfolge bei der oralen Immunisierung nur mit lebenden Keimen erzielen lassen, außer bei Shigellen. Er deutete dies nun dahingehend, daß Bakterien von der gesunden und nicht geschädigten Schleimhaut der Darmwand nur dann aufgenommen werden könnten, wenn sie lebend diese angreifen, schädigen und so dieselbe passieren können. Bei den Shigellen würde dies das auch in den abgetöteten Bakterien vorkommende Endotoxin bewerkstelligen. Er leitete daraus ab, daß man bei der oralen Immunisierung mit Salmonellen den Impfstoff mit einer oberflächenaktiven Substanz kombinieren müsse, die ebenso wie das Endotoxin der Shigellen die Darmschleimhaut so verändert, daß sie für die Fremdstoffaufnahme bereiter wird. Er dachte eine solche "sensibilisierende" Substanz in der Galle gefunden zu haben, nachdem er bei gegen Typhus, Paratyphus und Cholera oral immunisierten Kaninchen feststellte, daß nur die Tiere die jeweilige Infektion überlebten, die mit Galle vorbehandelt worden waren. Dieses Ergebnis bestätigten mehrere Autoren z. B. ARLOING (1), GLOTOWA (16), GOLOVANOFF (17), MIZUTANI (28) und HAIOS (18). KLÜCHIN und WIGODTSCHIKOFF arbeiteten an dem Modell des darmwandsensibilisierenden Endotoxins der Shigellen weiter und stellten eine erhebliche Verbesserung des Impferfolges nach Vorbehandlung mit hitzeinaktivierten Shigellen bei der oralen Typhusimmunisierung fest (24).

Da Saponine als stark oberflächenaktive Substanzen gelten, erprobte BECKER sie als Adjuvantien am Beispiel der Resorption von Diphtherieserum aus dem Rektum; er konnte jedoch keinen überzeugenden Erfolg nachweisen (3).

RAETTIG griff den Gedanken der "Sensibilisierung" mit Galle wieder auf und prüfte am Modell des T_3 Phagen nach einstündiger Gallevorfüterung die Menge der nachweisbaren Phagen im strömenden Blut, diese war jedoch nicht größer, sondern es ergab sich, daß der Verbleib der Phagen im Blut verlängert wurde (33).

In jüngster Zeit wies RAETTIG auf die Verwendung des DMSO als Adjuvans hin (35) und SCHMUDDE überprüfte dies in einer Versuchsreihe (42). DMSO steigert die Permeabilität von Haut

und Schleimhäuten hochgradig bei gleichzeitiger guter Verträglichkeit. Es stellte sich jedoch bei den Versuchen heraus, daß das chemisch sehr aggressive DMSO das Antigen zerstört. Dadurch konnte bei der oralen Immunisierung kein Erfolg festgestellt werden. Es lag dann nahe, eine Versuchsreihe mit einer zeitlich getrennten Gabe zu erproben, aber auch diese führte zu keiner Erhöhung der Impfwirkung. GRABEN überprüfte die Wirkung des kompletten und inkompletten Freund'schen Adjuvans bei der oralen Immunisierung, konnte jedoch keine Verbesserung des Impfschutzes herbeiführen (41).

3. Aufgabenstellung

Meine Aufgabe sollte nun darin bestehen, nachzuprüfen, ob durch die Zugabe eines Adjuvans zu einer Phagensuspension bestimmten Titters die Persorption der T_3 Phagen bei oraler Gabe erhöht würde. Als Adjuvans wurde Harnstoff gewählt, da auf Grund eines Selbstversuches diese Substanz geeignet erschien, die Resorptionsrate von Partikeln aus dem Intestinaltrakt in das strömende Blut zu steigern (46). Da es bei dieser Aufgabe vor allem darauf ankommt, die Aufnahmebereitschaft der Darmschleimhaut für das aufzunehmende Partikel zu steigern und da bekannt ist, daß Harnstoff ein mildes Mukolytikum darstellt, nach DAVENPORT ein klassisches Mittel ist die Mukosabarriere zu durchbrechen(10), ist es theoretisch leicht anzunehmen, daß der Harnstoff zunächst die Schleimauflagerungen löst, und allein dadurch das Epithel schon so vorbereitet ist, oder, daß es durch den Einfluß von Harnstoff noch weiter verändert wird, so daß der Modellpartikel, in diesem Fall der Coliphage T_3 leichter und schneller durch die veränderte Darmwand persorbiert wird. Im einzelnen werde ich auf diese Überlegungen in der Diskussion zurückkommen.

B. MATERIAL UND METHODEN

=====

1. Versuchstiere

Es wurden für die Versuche weiße Mäuse aus der Zucht des Robert Koch-Institutes vom NMRI-Stamm verwendet. Das Durchschnittsgewicht betrug 14 - 16 g. Es wurden in Haupt- und Nebenversuchen insgesamt etwa 1.000 Mäuse untersucht.

2. T₃ Phase / Anzüchtung

Als Modellvirus diente der Coli B Phage T₃. Dieser wurde auf zwei Arten angezüchtet: a) Eine dreistündige Coli B Bouillon wurde filtriert (MP 14 Filter), dabei dreimal mit je 5 ml Sautonlösung gewaschen, anschließend wurde der Bakterienrasen in eine Waschflasche mit Sautonlösung gegeben und bei 37° C mit O₂-Durchspülung inkubiert. Danach wurde zur Bakteriensuspension (Dichte 10⁷) 0,5 ml Phagenlösung zugegeben und weiter mit O₂ durchspült, bis die Lösung klar wurde (Phagentiter etwa 3 x 10⁹).

b) Einer zweistündigen Coli B Bouillon wurden 10 % Phagen zugesetzt und drei Stunden bei 37° C inkubiert (Phagentiter etwa 7 x 10⁹).

3. Versuchsanordnungen

In allen Versuchen bekamen die Versuchstiere je 0,5 ml einer Phagensuspension oder einer Phagen-Harnstoffmischung oral mit einer abgestumpften Metallsonde verabreicht. In den Versuchen, in denen Harnstoff 2 h vorher gegeben wurde, wurde dieser in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und ebenfalls oral verabreicht.

Messung des Phagengehalts im Blut:

In den Vorversuchen, die unter C 1 a beschrieben sind, wurden die Mäuse in Äthernarkose nach Eröffnung des Thorax herzpunktiert, je 0,3 ml Blut in einer mit Natrium citricum durchspülten Spritze entnommen, mit 0,7 ml Coli B Bouillon (Titer 10⁷) vermischt und auf trockene Wasserblau Dextrose

Agarplatten verteilt (36).

In den Vorversuchen, die unter C 1 b beschrieben sind, wurden die Mäuse vor der oralen Gabe der Phagensuspension bzw. des Phagen-Harnstoffgemisches (5 mg / 1 ml Phagensuspension) 24 h nüchtern gelassen. 30 min nach Gabe der Testsubstanzen Entnahme des Magens nach Tötung durch HWS-Bruch und Unterbindung vom oralen und aboralen Ende her, Aufschneiden des Magens, leichte Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung, da meist trotz der langen Hungerperiode Reste von Speisebrei zu finden waren, anschließend Quetschung zwischen zwei Objektträgern und Ausstreichen des so entnommenen Magensaftes nach Zufügung von Coli B Bouillon auf trockenen Wasserblau Dextrose Agarplatten.

In den Hauptversuchen wurde den Versuchstieren 0,05 ml Blut aus der Schwanzvene entnommen mit Hilfe einer Blutzuckerpipette, die mit 3,8 %igem Natrium citricum durchspült war, mit 0,38 ml Coli B Bouillon vermischt und auf trockene Wasserblau Dextrose Agarplatten verteilt.

C. ERGEBNISSE

=====

1. Vorversuche

a) Ureamenge

Da bekannt ist, daß hohe Harnstoffkonzentrationen die Aktivität von Viren beeinträchtigen können, setzten wir die Ureamenge zunächst auf 5 mg/1 ml Phagensuspension fest. Damit lagen wir in einem sicheren Bereich, da in der Literatur angegeben wird, daß Konzentrationen unter 15 % keinen Einfluß auf die Aktivität von Viren haben sollen (45). Nachdem aber in den meisten Versuchen, in denen eine sogenannte barrierebrechende Wirkung von Harnstofflösungen auf Mukosazellen nachgewiesen wurde, mit höheren Konzentrationen gearbeitet wurde und die Wirkung proportional zur Konzentration wuchs, erprobten wir auch noch eine 5 %ige Lösung, d. h. 50 mg/1 ml; es ergab sich jedoch, daß die Anzahl der Phagen im strömenden Blut nach Gabe der 0,5 %-Lösung durchweg höher lag (Tab. 1). Hier ist auch zu sehen, daß Harnstoff und die Phagen sich nicht gegenseitig beeinflussen, da keine niedrigeren Werte als in der Kontrollgruppe auftraten. Weiterhin gaben wir stets frisch zubereitete Harnstofflösungen, da, wie REITHEL berichtet (39), von STARK et al. auf die Notwendigkeit hingewiesen wurde, frische Harnstofflösungen zu gebrauchen, da sich bei längerem Stehenlassen Cyanat bilde (44). Wir legten uns auf eine Blutentnahme in dem Zeitraum von 20 - 30 min fest, da es technisch nicht möglich ist, bei allen Mäusen genau 30 min nach der Fütterung Blut zu entnehmen. In der gewählten Zeitspanne jedoch ist die Persorptionskurve so abgeflacht, daß man vergleichbare Werte bei allen Entnahmen erhält.

b) Magensaftentnahme

Nachdem HOFFMANN feststellte, daß bei flach oraler Gabe die hohen Resorptionsmengen auf die Störung des Schluckautomatismus durch die Sonde und somit auf ein "Verschlucken" der Phagensuspension in die Trachea zurückzuführen seien, da bei

Passage des Magens der Titer der Phagen um ungefähr 5 Zehnerpotenzen abfalle, wir diesen Mechanismus in unseren Versuchen berücksichtigen mußten, überprüften wir, ob das saure Milieu des Magensaftes das Harnstoff-Phagengemisch stärker angreift als die Phagensuspension allein. Es zeigte sich, daß, wie aus Abb. 1 hervorgeht, die Zahl der im Magensaft gefundenen Phagen mit und ohne Harnstoff sich in so ähnlichen Größenordnungen bewegt, vor allem dann, wenn man die immer auftretende hohe Streubreite bei Phagenversuchen berücksichtigt, so daß hieraus keine nennenswerte Beeinflussung durch das saure Milieu geschlossen werden kann.

Tab. 1: Versuch mit verschiedenen Ureamengen

- a) Verabreichung von 0,5 ml Phagen-Harnstoffgemisch
(5 mg Urea/1 ml Phagenlösung),
Kontrolle: Gabe von 0,5 ml Phagensuspension
- b) Verabreichung von 0,5 ml Phagen-Harnstoffgemisch
(50 mg Urea/1 ml Phagenlösung),
Kontrolle Gabe von 0,5 ml Phagensuspension
Titer etwa 3×10^9

Anzahl der Phagen im Blut 30 min nach Gabe der
jeweiligen Lösungen

<u>mit Urea</u>		<u>ohne Urea</u>	
a)	b)	a)	b)
300	0	2	0
478	0	15	0
297	0	10	0
273	4	0	0
459	7	3	2
0	8	5	3
1	2	7	0
2	2	8	0
2	1	4	0
0	0	0	0
6	0	1	0
8	0	0	0

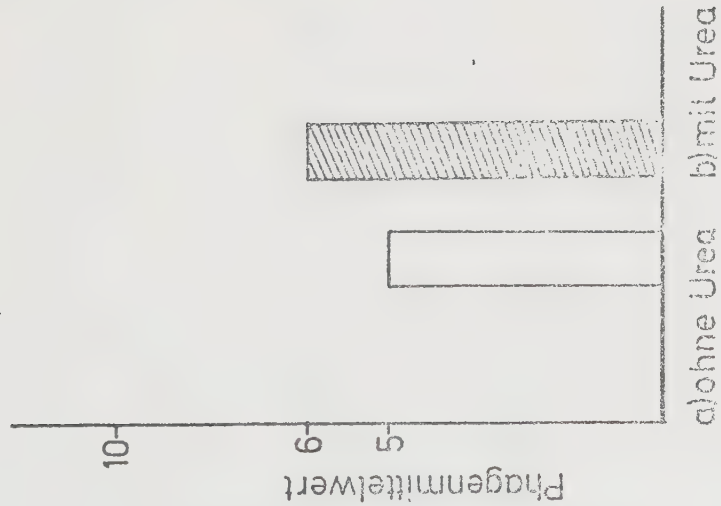


Abb. 1:

Mittelwerte der Mengen der im Magensaft
 enthaltenen Phagen 30 min nach Gabe
 von 0,5 ml Phagensuspension

- a) ohne Ureazusatz
 - b) mit 2,5 mg Urea
- (Phagentiter $\sim 7 \times 10^9$)

2. Hauptversuche

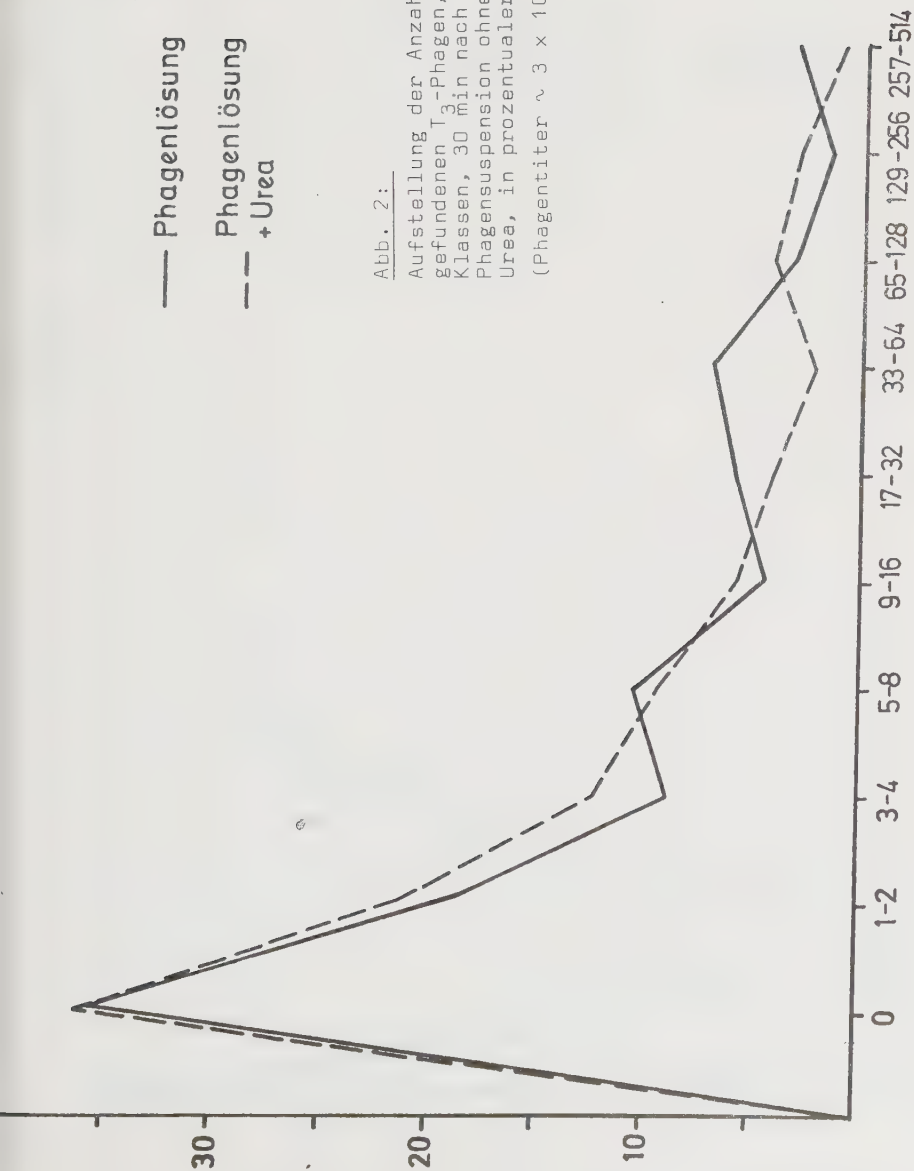
a) Gleichzeitige Gabe von Urea und Phagenlösung

In der Annahme, daß die Harnstofflösung die Schleimhaut des Intestinaltrakts so vorbereiten, das heißt so schädigen würde, daß der Phage schneller und leichter persorbiert würde, lösten wir zunächst den Harnstoff sofort in der Phagensuspension, nachdem wir eine direkte Schädigung des Phagen durch den Harnstoff theoretisch und praktisch ausgeschlossen hatten, und gaben dieses Gemisch oral. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen nun, daß in 9 von 17 Versuchsreihen die Phagendurchschnittszahlen im Blut nach Zugabe von Harnstoff höher liegen als in den Kontrollreihen (Tab. 2). Dabei ist auffallend, daß in drei Versuchen ein sehr viel höherer Mittelwert, nämlich um das drei- bis zweihundertfache zu registrieren ist, während in den übrigen sechs Versuchen ungefähr die doppelte Phagendurchschnittszahl erreicht wurde. Dieses Phänomen tritt auch in den umgekehrten Fällen auf, in denen die Phagendurchschnittswerte der Versuchsreihen ohne Harnstoffzugabe höher liegen. Dies mag vor allem darauf zurückzuführen sein, daß diese den Mittelwerten zugrundeliegenden Einzelergebnisse, wie schon in den Vorversuchen in der Höhe beträchtlich voneinander abweichen und auch viele Nullergebnisse das Gesamtbild verzerren. HOFFMANN (22), SAHM (640) und UECKER et al. (47) beschreiben ebenfalls diese hohe Streubreite und versuchen sie durch die extremen physiologischen Unterschiede der Einzeltiere in bezug auf den Stand der Sättigung zu erklären. Um die Streubreite sichtbarer zu machen und gleichzeitig eine Gegenüberstellung der einzelnen Werte zu erreichen, bildeten wir Klassen und gaben ihre prozentuale Häufigkeit an (Abb. 2). Hier sieht man erstens, daß bei alleiniger Gabe von Phagensuspension die Werte in einigen Klassen leicht höher liegen, daß diese leichte Erhöhung aber nicht ausreicht, da sie weder eindeutig genug, noch über alle Klassen deutlich verteilt ist, um auf eine negative Beeinflussung der Persorption schließen zu können und zweitens sieht man, wie viele Nullwerte bei allen Versuchsreihen vorkamen. Es muß also

— Phagenlösung
 --- Phagenlösung
 + Urea

Abb. 2:

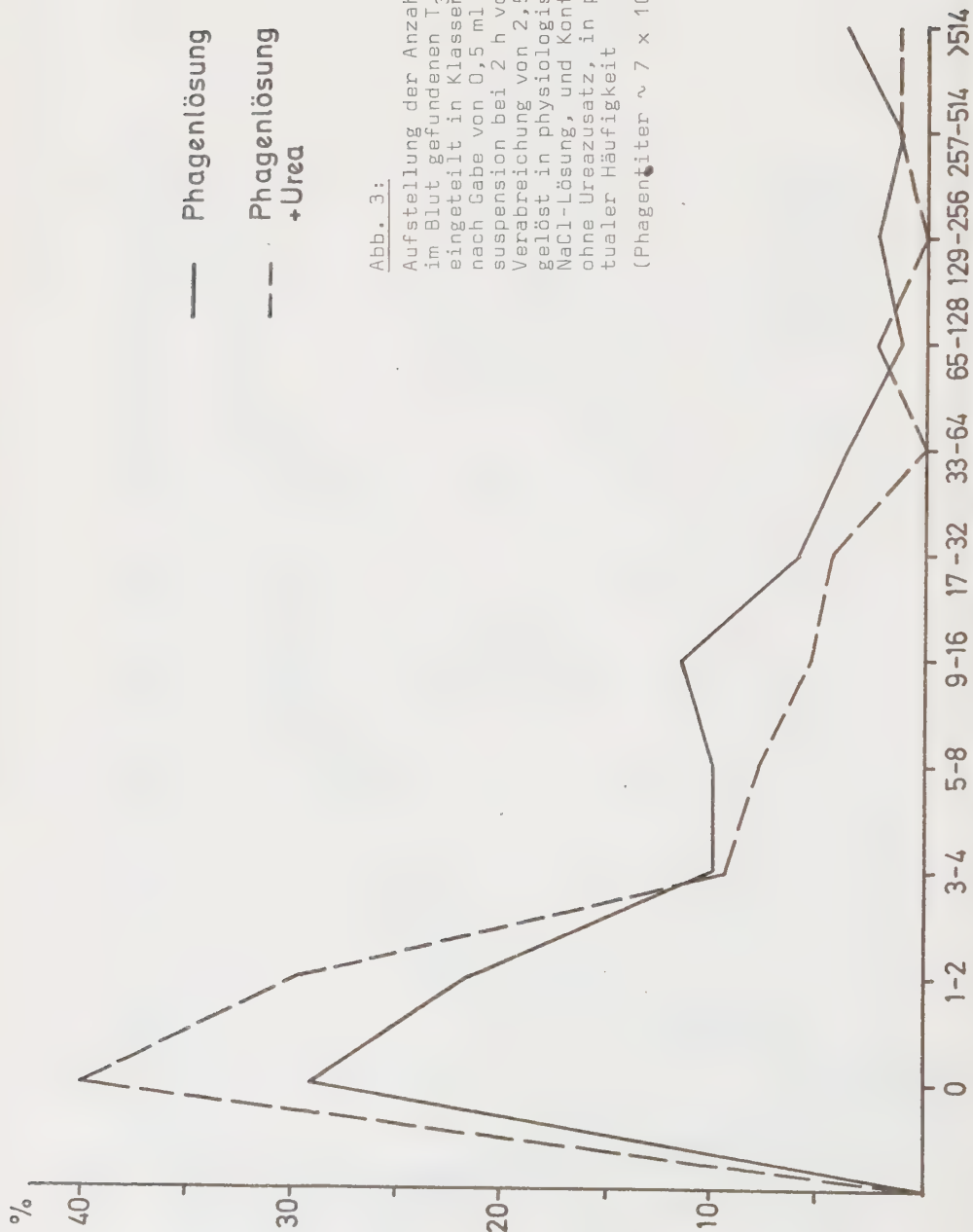
Aufstellung der Anzahl, der im Blut
 gefundenen T_3 -Phagen, eingeteilt in
 Klassen, 30 min nach Gabe von 0,5 ml
 Phagensuspension ohne und mit 2,5 mg
 Urea, in prozentualer Häufigkeit
 (Phagentiter $\sim 3 \times 10^9$).



— Phagenlösung
 --- Phagenlösung
 + Urea

Abb. 3:

Aufstellung der Anzahl der im Blut gefundenen T₃-Phagen, eingeteilt in Klassen, 30 min nach Gabe von 0,5 ml Phagen-suspension bei 2 h vorheriger Verabreichung von 2,5 mg Urea; gelöst in physiologischer NaCl-Lösung, und Kontrolle ohne Ureazusatz, in prozentualer Häufigkeit (Phagentiter $\sim 7 \times 10^9$).



festgestellt werden, daß bei gleichzeitiger Gabe von Harnstoff und Phagensuspension die Persorptionsrate der Phagen nicht beeinflußt wird.

b) Ureagabe 2 h vorher

Da dieses Ergebnis nicht befriedigend war, die theoretischen Überlegungen und die praktischen Ergebnisse anderer Untersucher doch einen Einfluß auf die Schleimhaut des Intestinaltrakts nahelegten, gaben wir in einer zweiten Konzeption den Harnstoff, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, 2 h vor der oralen Gabe der Phagensuspension. Wir versprachen uns hiervon eine bessere Vorbereitung der Mukosa durch die Harnstofflösung, das heißt, die Schädigung sollte soweit fortgeschritten sein, daß die Aufnahme der Phagen in höherer Zahl erfolgen konnte. Die Ergebnisse widerlegten diese Annahme eindeutig, da in diesen Versuchsreihen kein einziges Mal die Werte bei Zugabe von Harnstoff höher lagen (Tab. 3). Im Gegenteil, nur in 2 Reihen liegen die Werte in geringem Abstand, in den anderen 4 Reihen sind die Phagendurchschnittswerte der Kontrollgruppen ohne Harnstoffzugabe weit höher. Auch hier machten wir eine graphische Darstellung nach Klassen und prozentualer Häufigkeit (Abb. 3). Hier fallen vor allem die Nullwerte nach Zugabe von Harnstoff auf, die über 10 % häufiger als bei den Kontrollgruppen auftreten, während in der ersten Konzeption die Nullwerte in beiden Reihen gleich häufig verteilt sind. Daraus kann man schließen, daß die Persorption beeinträchtigt wird und zwar bei einem Anteil der Tiere von 10,5 % so stark, daß bei ihnen keine Phagen mehr im Blut erscheinen (wenn man den offenbar konstanten Anteil von ca. 25 - 28 % von Tieren, die keine Phagen persorbieren, abrechnet). Ich werde auf diese Ergebnisse in der Diskussion eingehen.

Tab. 2: Aufstellung der Phagenmittelwerte nach 30 min im Blut nach Gabe von 0,5 ml Phagensuspension
a) ohne Urea
b) mit 2,5 mg Urea
(Phagentiter $\sim 3 \times 10^9$)

ohne Urea		mit Urea
Versuch 1	22,2	75,4
Versuch 2	29,8	11,5
Versuch 3	52,0	2,6
Versuch 4	0,4	2,7
Versuch 5	1,0	30,0
Versuch 6	0,07	19,4
Versuch 7	0,4	0,9
Versuch 8	7,06	0,61
Versuch 9	5,0	10,05
Versuch 10	31,2	38,8
Versuch 11	4,5	8,07
Versuch 12	37,6	10,06
Versuch 13	12,0	3,9
Versuch 14	45,1	80,9
Versuch 15	2,1	0,4
Versuch 16	0,1	0,0
Versuch 17	3,7	0,2

Tab. 3: Aufstellung der Phagenmittelwerte nach 30 min im Blut nach Gabe von 2,5 mg Urea, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung 2 h vor der oralen Gabe von 0,5 ml Phagensuspension und Kontrolle ohne Ureazusatz
(Phagentiter $\sim 7 \times 10^9$)

ohne Urea		mit Urea
Versuch 1	0,5	0,2
Versuch 2	32,6	0,26
Versuch 3	2,6	1,6
Versuch 4	28,6	8,5
Versuch 5	72,1	57,3
Versuch 6	64,6	4,9

D. DISKUSSION

=====

In der vorliegenden Arbeit versuchte ich zu prüfen, ob durch die Gabe von Harnstoff, gelöst in der Suspension der Testpartikel, oder durch orale Gabe 2 h vor der ebenfalls oralen Applikation der Testpartikel, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, eine Persorptionserhöhung stattfindet. Hierbei ist die zentrale Frage: Existiert eine Vorbereitung der Wand des Intestinaltrakts, d. h. der Persorptionsfläche, im Sinne einer "Sensibilisierung", die den Durchtritt der Testpartikel gleichzeitig oder zu einem späteren Zeitpunkt erleichtert? Dabei ist es wohl nötig, zum besseren Verständnis kurz noch auf die Grundvorgänge bei der Aufnahme von Stoffen aus dem Darmlumen einzugehen, die normalerweise abgekürzt Resorption oder Absorption genannt werden. Es müssen zelluläre und parazelluläre Mechanismen streng getrennt werden: Die zellulären Mechanismen lassen sich einteilen in a) Diffusion, b) Resorption (im eigentlichen, engen Sinn), c) Cytopempsis.

Zu a)

Bei der Diffusion wird die Zelle durch eine gelöste Substanz passiv durchströmt, wobei sich die Moleküle in der gelösten Substanz nach dem Konzentrationsgradienten ausbreiten. Dabei spielt die Zellbarriere für die gelöste Substanz eine grundlegende Rolle.

Zu b)

Resorption im engen Sinn stellt die aktive Transportleistung der Zelle dar, wozu Energie aus dem Zellstoffwechsel notwendig ist. Sie dient der Aufnahme bestimmter Stoffe im Bereich molekularer Größenordnung.

Zu c)

Substanzen, deren Durchmesser bis zu 500 Å beträgt, werden durch Plasmalemmvesikulation der Aufnahmezelle einverleibt und so durch die Zelle geschleust. Der parazelluläre Mechanismus, mit dem wir uns hier beschäftigen, wird als Persorption oder Herbsteffekt bezeichnet. Ihn habe ich in der Einleitung

schon genau beschrieben. Auch er ist, wie alle Transportmechanismen, durchblutungsabhängig. Da sich dieser Prozeß an den Desquamationszonen und den Verbindungsstellen des Epithels der Darmschleimhaut abspielt, kamen wir zu der Überlegung, daß Harnstoff hier die Veränderungen bewirken kann, die eine nachfolgende parazelluläre Resorption erleichtern. Hier sind vor allem die Verbindungsstellen der Mukosazellen von Bedeutung. Hier liegen an der dem Darmlumen zugewandten Seite die sog. Zellverbindungsstellen - tight junctions und intermedia junctions - zwischen Mikrovilli und Desmosomen; und an der entgegengesetzten Seite der Zelle, von den Desmosomen zur Basalmembran der Interzellularraum. Es ist seit langem bekannt, daß Harnstoff ein sog. "barrier breaker" ist. Der Begriff Barriere ist theoretischer Natur und kommt von der Barrierefunktion der Magenschleimhaut gegenüber dem sauren Magensaft, wird aber auch für die übrige Intestinalschleimhaut angewandt. Das genaue anatomische Substrat und der exakte Sitz ist unbekannt. Man nimmt an (10), daß eine Komponente die Anordnung der Lipoproteine ist, die die Plasmamembran der Mukosazellen formt, eine andere die Schleimanordnung auf den Spitzen der epithelialen Zellen. Im Schleim könnten es nach VOSS (51), der in einem Versuch nachwies, daß Polielektrolyte eine Diffusion von Viren zur Wirtszelle verhindern, u. a. die neuraminsäurehaltigen Muzine sein. In ihnen liegt die Neuraminsäure als Anteil des Schutzfilms der Schleimhaut und verfügt angeblich über spezifische Rezeptoren, die in der Lage sind, schädliche Agentien verschiedenster Ladungseigenschaften bzw. Oberflächengestaltungen lokal zu fixieren und somit langsamere Abwehrleistungen zu entlasten. Obwohl sich zahlreiche Autoren damit befaßt haben, herauszufinden, wie der Mechanismus des Barrierebrechens vor sich geht, sind doch noch keine Beweise für einen eindeutigen Mechanismus gefunden worden. DAVENPORT (10) fand, daß bei einer 2 molaren Harnstofflösung die Permeabilität der Magenmukosa sowohl für Harnstoff selbst als auch für andere Elektrolyte, wie Na, K, H steigt und er führt dies auf eine Zerstörung der Magenmukosabarriere durch Urea zurück. Er nimmt an, daß dies durch eine rein chemische Zergliederung der Spitzen der oberflächlichen epithelialen Zellen geschieht.

Diese These wird gestützt durch die alte Beobachtung, daß Harnstoff ein mildes Mukolytikum, das sehr gewebsverträglich ist. Er ist in der Lage, bei lokaler Gabe Schleim auf Ulzerationen zu lösen (26) und BAUER beschreibt eine Methode zur Auflösung hochvisköser Paukenexsudate mit 8 molarer Harnstofflösung (2). Er löst die Wasserstoffbrückenbindungen, durch die die dreidimensionale Gelkonfiguration der die Viskosität des Schleims bedingenden Mukoproteide bestimmt ist. Diese Auflösung der Gelstruktur soll langsam vor sich gehen und irreversibel sein (14). Der Aufbau der Schleimstoffe ist, soweit er bekannt ist, folgendermaßen: Es sind Glykoproteide, wobei der Kohlenhydratanteil polysaccharidartig sein kann und u. a. aus Fucose und Sialinsäure = Neuraminsäure besteht. Dieser Kohlenhydratanteil ist endständig, die Abspaltung erfolgt leicht, da er meist in einer glykosidischen Bindung zwischen den OH-Gruppen des Zuckers und den Carboxylgruppen von Aspartat und Glutamat vorliegt. Diese Glykoproteide werden in ihrer Sekundär- und Quartärstruktur von Nebenvalenzenbindungen zusammengehalten: Hydrophobe und Wasserstoffbrückenbindungen. Diese vermag Harnstoff auch in geringen Konzentrationen anzugreifen (29). REITHEL (39) stellt die kompetitive Zerbrechung der Wasserstoffbrückenbindungen noch als Arbeitshypothese hin. Er berichtet von Beispielen, in denen Harnstoff den Enzymkomplex Flavocytochrom B₂ in ein Hämoprotein, ein Flavin und ein Ribonukleotid zerlegt (6). Er berichtet auch von Versuchen, in denen mit Modellverbindungen gezeigt werden sollte, daß Harnstoff eine Wirkung auf hydrophobe Bindungen hat (8, 27) und schreibt auch hier, daß es nur indirektes Beweismaterial für die Lösung dieser Bindungen gebe. RAPOPORT (37) dagegen beschreibt klar die Wirkung von Harnstoff auf Proteine: Harnstoff wie auch die Guanidine haben eine stärkere Fähigkeit zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen als Wasser. Daher tritt bei Zusatz von Harnstoff zu Eiweißlösungen eine Konkurrenz des Harnstoffes mit den Peptidbindungen um die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen auf, und es kommt zur Auflösung der Wasserstoffbrücken der Peptidkette. Wahrscheinlich werden aber auch die hydrophoben Bindungen durch Änderung des Ordnungsgrads des Wassers beeinflußt. Die Anwendung konzentrierter

bis 8 molarer Harnstofflösungen führt demnach zur Auflösung der Helixstruktur und zur Zerlegung aller jener Proteine in Submoleküle, bei denen Wasserstoffbrücken einen erheblichen Anteil am Zusammenhalt des Gesamtmoleküls haben. Wie stark die Tendenz zur Aufrechterhaltung der ursprünglichen Struktur ist, die sich durch ihre Bindungen und ihre gegenseitige Stabilisierung ergibt, geht unter anderem daraus hervor, daß die Harnstoffdenaturierung zuerst ohne nennenswerte Abnahme der Zahl der Wasserstoffbrückenbindungen sehr langsam verläuft, bis schließlich an einem bestimmten Punkt eine fast schlagartige Auflösung der kompletten Helix erfolgt. Dieser Vorgang wird auch als Schmelzen bezeichnet. Der Harnstoff kann jedoch nicht nur die Helixstruktur auflösen, sondern auch alle jene Proteine in Submoleküle zerlegen, bei denen Wasserstoffbrückenbindungen einen erheblichen Anteil am Zusammenhalt haben. PETERMANN et al. (32) bestätigen dies in ihrer Arbeit über die Wirkung von Agentien, die einen Einfluß auf die Hydrogenbindungen in der Struktur von Leberribosomen haben, nämlich, daß die erfolgte Dissoziation durch Harnstoff auf die Schwächung und Lösung der Hydrogenbindungen in den stark hydratisierten Leberribosomen zurückzuführen ist. Neuerdings ist auch eine Therapie der Sichelzellanämie mit Harnstofflösungen im Gespräch (31). Dabei besteht Uneinigkeit sowohl über die Konzentration wie auch über den Wirkmechanismus. Die einen führen die Erfolge auf die Auflösung der durch hydrophobe Bindungen zusammengehaltenen abnorm gebundenen Hämoglobinemoleküle zurück, die anderen auf die durch Harnstoff erhöhte Sauerstoffbindung des Hämoglobin (29, 30). Weiterhin soll Harnstoff eine wirkungsvolle Extraktionssubstanz sein, um die Proteine des Hypophysengewebes zu trennen, hier nimmt man an, daß die Wirkung in einer Herabsetzung der Protein-Protein Wechselwirkung besteht (38). Bei der Aufklärung der Zusammensetzung von Weizengluten mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese wirkte Harnstoff, indem er die Löslichkeit heraufsetzte, somit höhere Proteinkonzentrationen zuließ und die Anziehung der einzelnen Fraktionen herabsetzte (55).

Wie sehen nun die Veränderungen an der Schleimhaut, dem Resorptionsort aus, die er dort durch die Auflösung der Schleimmoleküle in einkettige Untergruppen bewirkt? Gänzlich ist diese Frage keineswegs geklärt, aber EASTWOOD und KIRCHNER (13) beschreiben in ihrer Arbeit über feinstrukturelle Veränderungen des Magenepithels der Maus, daß, nachdem sie 300 mN, 900 mN, 1500 mN Harnstofflösung auf die Schleimhaut einwirken ließen, sich lichtmikroskopische Veränderungen folgender Art zeigten. Nach dem Einwirken von 300 mN, also isotoner Harnstofflösung, kam es zu einer multiplen Vakuolenbildung im Oberflächenepithel, und zwar schon nach 2 min. Im Elektronenmikroskop sahen sie dann, daß das Zytoplasma der oberflächlichen Mukoszellen diskrete Vakuolen enthält, und das Kernchromatinstromatium Klumpungen zeigt. Die tight junctions waren alle zu einem Bläschen verdreht worden. DIE BONA, LIVAN, WACHE (11, 52) beschreiben, daß nach Einwirken von hypertonen Harnstofflösungen Bläschen in den tight junctions des Epithels der Krötenblase auftreten. EASTWOOD und KIRCHNER führen die Phänomene, die in ihren Versuchen schon bei isotoner Urealösung aufgetreten sind, auch auf osmotische Kräfte zurück, ohne auf diesen Widerspruch einzugehen. Aus diesen Befunden nun läßt sich auch bei niedrigen Dosen von Harnstoff eine deutliche Beeinträchtigung des Schleimhautepithels ableiten. Von diesen Tatsachen und Überlegungen ausgehend, ist es doch enttäuschend, daß bei unseren Versuchen kein klares Ergebnis im Sinne der erwarteten Resorptionserhöhung eingetreten ist. Naheliegend sind zwei Erklärungen: a) eine zu geringe Ureakonzentration und b) eine zu geringe Einwirkungszeit des Harnstoffs am Wirkort. Eine dritte naheliegende Erklärungsmöglichkeit kann sofort ausgeschlossen werden, nämlich die der so starken Schädigung des Resorptionsortes, daß keine Partikel mehr aufgenommen werden konnten, da ja bei den Kontrolltieren im Mittelwert annähernd gleich große Mengen resorbierter Phagen im strömenden Blut nachgewiesen werden konnten. Zudem liegen die Resorptionsergebnisse sowohl der Harnstoffbehandelten wie auch der Kontrolltiere in einer ähnlichen Größenordnung, wie sie von HOFFMANN (22) nach oraler Applikation von T_3 Phagen bei Mäusen ohne Zusatz eines Adju-

vans gefunden wurde. Zu der Erklärungsmöglichkeit a), nämlich der zu geringen Harnstoffkonzentration, ist folgendes zu sagen: Wir verwendeten in den Hauptversuchen eine Konzentration von 0,5 % (= 5 mg/1 ml), d. h., wir verwendeten eine Konzentration, die rund ein Viertel weniger als 0,1 Mol Urea enthielt. In dem ersten Vorversuch erprobten wir eine Konzentration von 50 mg/1 ml = 5 %-Lösung, wobei wir keinen Unterschied in der Persorption feststellen konnten. Die zuerst genannte Konzentration liegt weit niedriger als die meisten in der Literatur angegebenen, die eine Entfaltung von Proteinen verursachen. Wie schon dargelegt, verläuft der Entfaltungsprozeß in Phasen, und so werden bei höheren Konzentrationen mehr Proteine entfaltet (43). Die barrierebrechende Wirkung ist von DAVENPORT (10) in ansteigender Höhe von 1, 2, 4 Mol angegeben. Es kann also aus unserer niedrigen Konzentration nicht mit Sicherheit eine Verdrehung der tight junctions und Vakuolenbildung der apikalen Epithelzellen der Mukosa geschlossen werden. Auch bei der Auseinandersetzung um die nötigen Konzentrationen bei den Therapieverschlüssen zur Sichelzellanämie geht es um sehr geringe Konzentrationen, nämlich um 0,004 - 0,117 Mol, denen schon eine Wirkung zugeschrieben wird und ab 0,2 Mol, was als unterste Grenzgröße von den Gegnern genannt wird.

Die andere naheliegende Erklärungsmöglichkeit ist die fehlende Verweildauer des Harnstoffs am Wirkort. In den meisten Versuchen, in denen der Effekt des Barrierebrechens durch Harnstoff nachgewiesen wird, wird durch technische Manipulationen eine Einwirkungszeit von dreißig Minuten, fünfzehn und zehn Minuten hergestellt (10). Die kürzeste Zeit wird mit zwei Minuten in den Versuchen von EASTWOOD und KIRCHNER (13) angegeben. Bei dieser kurzen Zeit sind Veränderungen nachweisbar. Wir können für unsere Versuche eine Einwirkzeit des Harnstoffs auf die Mukosa von wenigen Minuten annehmen, da wie in der Einleitung schon beschrieben, nach zwei bis vier Minuten die ersten Phagen im strömenden Blut erscheinen. Diese Möglichkeit scheidet also zur Erklärung des negativen Ergebnisses aus.

Eine dritte Möglichkeit, nämlich die Zerstörung oder zumindest teilweise Inaktivierung der T_3 -Phagen, ist ebenfalls in Betracht zu ziehen. Ich habe am Anfang darauf hingewiesen, daß höhere Konzentrationen, es werden im allgemeinen Konzentrationen ab 10 - 15 % angegeben, Inaktivierung bewirken. Obgleich die von uns verwendete Konzentration weit darunter lag, könnte man doch eine eventuelle Beeinträchtigung der T_3 -Phagen in Betracht ziehen. Diese wäre dann genau so groß, daß sie die bessere Persorption durch die Harnstoffeinwirkung aufheben würde. Das ist sehr unwahrscheinlich.

Die gleich große Zahl der Nullwerte, die in den Versuchsreihen auftritt, läßt sich am besten durch die unterschiedliche Aufnahme der T_3 -Phagen durch die Tiere erklären. RAETTIG (33) schreibt hierzu, daß ein offenbar recht konstanter Teil der Tiere unfähig sei, die Passage der Phagen durch die Darmwand zu ermöglichen. Dies wird offensichtlich durch Urea nicht verändert. In dem Ergebnis des zweiten Hauptversuches jedoch, in dem die Urealösung zwei Stunden vor der oralen Applikation der Phagensuspension gegeben wurde, zeigte sich, daß die Nullwerte, d. h. die Zahl der Tiere, die keine Phagen persorbiert haben, um knapp 10 % höher liegt. Das kann bedeuten, daß Harnstoff hier die Darmschleimhaut so verändert hat, daß die Testpartikel nicht mehr passieren können.

Es ist jedoch bemerkenswert, daß bei den übrigen Versuchstieren die Durchdringung der Schleimhaut möglich war. In der Literatur war keine Erklärung für diese, nach einem Zeitintervall von zwei Stunden aufgetretene Persorptionsinsuffizienz der Intestinalschleimhaut, zu finden.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die von uns gewählten Konzentrationen von Harnstoff zu gering waren, um eine ausreichende "Sensibilisierung" der Intestinalmucosa, wie wir sie aufgrund vorliegender Erkenntnisse über Harnstoff erwartet hatten, hervorzurufen. Andererseits muß man bedenken, daß bei einer Steigerung der Konzentration um ein Mol die Gefahr der Inaktivierung der Bakteriophagen anwachsen würde. Man könnte nun

höhere Harnstoffkonzentration mit anderen Testsubstanzen, die nicht vermehrungsfähig bleiben müssen, kombinieren und prüfen, ob dann eine Erhöhung der Persorptionsrate möglich ist. Grundsätzlich ist aber zu bedenken, daß die Anwendung von Urea in der Humanmedizin nicht beliebig in höheren Dosen möglich ist, da im Anschluß an die Verabreichung die früher therapeutisch genutzte osmotische Diurese auftritt (25).

E. ZUSAMMENFASSUNG

=====

0,5 ml einer Coli B T₃ Phagensuspension (Titer 7×10^9) wurden mit 2,5 mg Harnstoff vermischt und weißen Mäusen oral gegeben. Der Phagengehalt im strömenden Blut wurde nach 30 min bestimmt. Die Versuchsergebnisse zeigen, daß durch die gleichzeitige Gabe von Harnstoff und Phagensuspension keine Persorptionserhöhung der Modellpartikel stattfindet. Bei oraler Gabe des Harnstoffs, 2,5 mg auf 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung, 2 h vor der oralen Gabe der Phagenlösung und Messung des Phagengehaltes im Blut nach 30 min zeigt sich, daß bei einer erhöhten Anzahl von Mäusen eine Persorptionsinsuffizienz auftritt. Diese Ergebnisse werden diskutiert in Abhängigkeit der Veränderungen, die Harnstoff an den Mukosazellen des Intestinaltrakts bewirkt.

F. LITERATUR

=====

- 1) Arloing, F.,
Noel, R.,
Martin, J.-F.,
Spassitsch, B.,
Etude histologique du foie et
de l'intestine dans l'anaphylaxie
digestive experimental du Cobaye.
C.r. Soc. Biol. (Paris) 93, 528
(1925)
- 2) Bauer, F.,
Treatment of "Glue Ear" by Intra-
tympanic Injection of Urea
J. Laryng. 82, 717 (1968)
- 3) Becker, H.,
Über Meerschweinchenversuche, durch
Chemikalien die Resorption von
rectal appliziertem Diphtherie-
serum zu erhöhen
Z.-Immun. Forschung 64, 114 (1929)
- 4) Besredka, A.,
Die lokale Immunisierung
(Dtsch. Übersetzung von G. Blumen-
thal)
Leipzig 1926, Verlag Barth
- 5) Besredka, A.,
Über lokale Immunisierung
(Dtsch. Übersetzung von Dr. Lewy)
Naturwissenschaften 17, 395 (1927)
- 6) Boeri, E.,
Rippa, M.
zitiert nach Reithel, F. J. (39)
Arch. Biochem. Biophys. 94, 336
(1961)
- 7) Bradley, S.,
Kim, J.,
Watson, D.,
Immune Response by the Mouse to
orally administered actinophage
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.
113, 686 (1963)
- 8) Bruning, W.,
Holtzer, A.,
zitiert nach Reithel, F. J. (39)
J. Am. Chem. Soc. 83, 4865

- 9) Chignell, D. A.,
Azhir, A.,
Gratzer, W. B.,
The Denaturation of Muscle
Phosphorylase b by Urea
Eur. J. of Biochem. 26, 37-42
(1972)
- 10) Davenport, H. W.,
Destruction of the gastric mucosal barrier by Detergents and Urea
Gastroenterology 54, 175-181
(1968)
- 11) Di Bona, D. M.,
Livan, M. M.,
Anatomic site of osmotically-induced conductance changes in toad urinary bladder
Fed. Proc. 31, 279 (1972)
- 12) Dietrich, W.,
Resorption von Tetanusgift durch den Darm
Klin. Wschr. 1, 1160 (1922)
- 13) Eastwood, G. L.,
Kirchner, J. P.,
Changes in the Fine Structure of Mouse gastric epithelium produced by Ethanol and Urea
Gastroenterology 67, 71-84 (1974)
- 14) Edward, D. W.,
Skoryna, St. C.,
Properties of Gel Mucin of Human Gastric Juice
Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 11E, 794-799 (1964)
- 15) Gerbermann et al.,
Perorale Immunisierung gegen Hühnerpocken
Zbl. f. Vet.med. 20, 689-695 (1973)
- 16) Glotowa, E.,
Immunisierung gegen Cholera per os
Zbl. f. Bakt. I.Ref. 7b, 1 (1924)
- 17) Golovanoff, M.,
De la Vaccination autocolibacillaire Etude de l'immunité locale
C.v. Soz. Biol. 98, 660 (1928)

- 18) Haioa, K.,
Beiträge zur Actiologie der anaphylaktischen Erkrankungen
Z. klin. Med. 100, 309 (1924)
- 19) Herbst, F.,
Das Lymphgefäßsystem und seine Verrichtungen
Göttingen 1844, S. 333
- 20) Hildebrand, G. J.,
Wolochow, H.,
Translocation of Bacteriophage across the Intestinal Wall of the Rat
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 109, 183-185 (1962)
- 21) Hirsch, R.,
Über das Vorkommen von Stärkekörnern im Blut und Urin
Z. exper. Path. 3, 390 (1906)
- 22) Hoffmann, M.,
Tierversuche zur Schleimhautpassage und Resorptionsvirämie von T₃ Phagen nach oraler, trachealer und rectaler Gabe
Zbl. f. Bakt. I Orig. 198, 371-390 (1965)
- 23) Keller, R.,
Enley, F.,
Fate of Bacteriophage Particles Introduced into Mice by various Routes
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 98, 577 (1958)
- 24) Klüchin, S.,
Wigodtschikoff, G.,
Weitere experimentelle Untersuchungen über die Enterovaccination gegen Cholera, Typhus abdominalis und Dysenterie
Z.-Immun. Forschung 42, 98 (1925)
- 25) Kümmerle,
Garret,
Spitzzy,
Klin. Pharmakologie und Pharmakotherapie, 2. Aufl.
München, Wien 1973, S. 613

- 26) Kuschinsky, G., Taschenbuch der modernen Arznei-
behandlung
6. Aufl., Stuttgart 1972, S. 623
- 27) Maxwell, E. S., zitiert nach Reithel, F. J. (39)
J. Biol. Chem. 237, 1699
- 28) Mizutani, Experimental studies on the (per
anal) Immunization by bacterial
Vaccines
Acta Dermatologica Kyoto 27, 15
(1936)
- 29) Nalbandian, R. M., Urea and Sickling
The New Engl.J. of Med. 289,
806 (1973)
- 30) Nalbandian, R. M., Oral Urea in Sickle-Cell Disease
Ann. Int. Med. 77, 659-660 (1972)
- 31) Nalbandian, R. M., Oral Urea therapy in children
with Sickle-Cell Anemia
J. Pediatr. 82, 311-313 (1973)
- 32) Petermann, M. C., Effects of Agents That Influence
Pavlovec, A., Hydrogen Bonding on the Strucutre
Hamilton, M., of Rat Liver Ribosomes
Biochemistry, Vol. 11, No. 21,
3925-3933 (1972)
- 33) Raettig, H., Tierexperimente zur Durchlässig-
keit des Intestinaltrakts für
Virus
Zbl. f. Bakt. I Orig. 191, 97-
103 (1963)
- 34) Raettig, H., Tierexperimente zur Resorptions-
virämie
Zbl. f. Bakt. I Orig. 192, 534-
538 (1964)

- 35) Raettig, H.,
Möglichkeiten des DMSO in der
experimentellen Immunologie
Internat. DMSO-Symposium, Wien
1966
Saladruck Berlin 1966
- 36) Raettig, H.,
Hofmann,
Die Vorteile der Farbindikator-
platte in der experimentellen
Arbeit mit Bakteriophagen
Zbl. f. Bakt. 161, 121 (1954)
- 37) Rapoport, S. M.,
Med. Biochemie,
5. Aufl., Berlin 1969
- 38) Reichert, L. E. Jr.,
zitiert nach Reithel, F. J. (39)
BBA 50, 191 (1961)
- 39) Reithel, F. J.,
Dissociation and Association of
Protein Structures
Advances Prot. Chem. 18, 191
(1963)
- 40) Sahm, E.,
Sekretion von T₃ Phagen als Mo-
dell-Virus in den Magen der Maus
nach intravenöser Injection
Inaug. Diss. FU Berlin 1968
- 41) Schlewinski, E.,
Graben, N.,
Funk, J.,
Sahm, E.,
Raettig, H.,
Orale Immunisierung mit nicht ver-
mehrungsfähigen Mikroorganismen
oder ihren Antigenen
13. Mitt.: Persorption und Sekre-
tion von Mikroorganismen im Tier-
versuch
Zbl. f. Bakt. I Orig. 218, 93
(1971)

- 42) Schmudde, H.,
Vergleichende orale, nasale und
rectale Impfung von Mäusen mit
inaktivierten Salm.typhi murium
Bakterien mit und ohne DMSO Zusatz
Inaug. Diss. FU Berlin 1968
- 43) Span, J.,
Lapanje, S.,
Solvation of β -Lactoglobulin and
Chymotrypsinogen A in aqueous
Ureasolutions
BBA 295, 371-378 (1973)
- 44) Stark, G. R.,
Stein, W. H.,
Moore, S.,
zitiert nach Reithel, F. J. (39)
J. Biol. Chem. 235, 3177 (1960)
- 45) Starke, G.,
Hlinak, P.,
Grundriß der allgemeinen Virologie
Jena 1972
- 46) Stickl,
Persönliche Mitteilung
- 47) Uecker,
Meves,
Raettig, H.,
Orale Immunisierung mit nicht ver-
mehrungsfähigen Mikroorganismen
oder ihren Antigenen.
6. Mittl.: Tierversuche zur Resorp-
tion und Sekretion von radio-mar-
kiertem bakteriellem Antigen
Zbl. f. Bakt. I Orig. 208, 2-15
(1968)
- 48) Volkheimer, G.,
Über parazelluläre chylöse Resorp-
tionsmechanismen
Zschr. Ges. Inn. Med. 18, 949
(1963)
- 49) Volkheimer, G.,
Durchlässigkeit der Darmschleim-
haut für großkorpuskuläre Elemente
(Herbsteffekt)
Zschr. f. Gastroenterologie II.
57-64 (1964)

- 50) Volkheimer, G.,
Zur Pathophysiologie der Dünndarm-
resorption - das Phänomen der Per-
sorption
Akt. Kongreßberichte 2; 17. ärzt-
licher Fortbildungskurs (1967),
S. 61
- 51) Voß, H.,
Virus und Polyelektrolyte
II. Mitt.: Die Bedeutung der Poly-
elektrolyte für die Abwehr antigen-
wirksamer Substanzen und Erreger
im Organismus
Zbl. f. Bakt. I Orig. 193, 1-33
(1964)
- 52) Wache, J. B.,
Reoch, J. P.,
Di Scale, V. A.,
Effects of osmotic gradients on
intercellular junctions of the
toad bladder
Am. J. Physiology 224, 407-415
(1973)
- 53) White, A.,
Handler, P.,
Smith,
Principles of Biochemistry
Ed. 3, Vol. 1, pp. 137, 154
New York 1964
- 54) Wolochow, H.,
Hildebrand, G. J.,
Lamanna, C.,
Translocation of Mikroorganisms
across the Intestinal Wall of the
Rat: Effect of Microbial Size
and Concentration
J. Infect. Disease 116, 523-528
(1966)
- 55) Woychnik, J. H.,
Bonndy, J. A.,
Dimler, R. J.,
zitiert nach Reithel, F. J. (39)
Arch. Biochem. Biophys. 94, 477
(1961)

Zum Schluß möchte ich Herrn Professor Dr. Hansjürgen Raettig für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung während der Arbeit danken.

Ebenso gilt mein Dank den Mitarbeitern der Abteilung, im besonderen Fräulein Christa Jaschinski für die fachkundige technische Hilfe.

Lebenslauf

Am 25. März 1950 wurde ich als Tochter des Dipl.-Ing. Erich Kohlbecker und seiner Frau Erika geb. Kuttruff in Karlsruhe/Baden geboren.

Ich besuchte die Volksschule in Gröbenzell bei München und das Kurfürst-Maximilian Gymnasium Burghausen an der Salzach; dort legte ich im Juni 1969 das Abitur ab.

Im WS 1969/70 begann ich an der FU Berlin das vorklinische Studium, das ich am 23. August 1972 mit dem Physikum abschloß.

Im Dezember 1974 Eheschließung mit dem Dipl.-Psych. Bernd von Seefranz.

